

亚麻芥种子油体的提取及稳定性研究

高红桃, 王艳芳, 杨晶, 郭晓威, 孙丹, 解长睿, 于威君, 周永刚, 王法微*, 李海燕*

吉林农业大学 生物反应器与药物开发教育部工程研究中心/生命科学学院, 长春 130118

摘要: 油体是植物种子内储藏脂肪的亚细胞单位, 其内部为三酰甘油 (TAG), 外部由单层磷脂和油体蛋白组成。这种稳定的结构可以使油体抵抗环境的压力, 便于应用到食品及制药工业中。本研究对比碱法、水法、Tris-HCl 法、Tricine 法四种油体提取方法, 对亚麻芥油体采取梯度离心法, 制备亚麻芥油体。并对不同 pH 值、温度、NaCl 浓度条件下油体稳定性做初步研究。结果表明, 四种方法所提取的油体大小均在 0.5-1 μm 之间; 相较于水法、Tricine 法, 碱法所回收油体被破坏, Tris-HCl 法提取油体大小均一, 提取率达 17%。同时, 油体在 $4 \leq \text{pH} \leq 7$ 条件下, 油体稳定性破坏。 $8 \leq \text{pH} \leq 10$ 时; 油体均匀分散, 稳定分布。经过不同温度及 NaCl 浓度处理的油体均呈上浮状态, 稳定性破坏。

关键字: 油体; 粒径; 油体蛋白; 稳定性; 显微结构

Extraction of Camelina Seed Oil Body and Analysis of Stability

Gao Hongtao¹, Wang Yanfang¹, Yang Jing¹, Yu Weijun¹, Guo Xiaowei¹, Sun Dan¹, Xie Changrui¹, Wang Fawei^{*},

Li Haiyan^{*}

College of Life Sciences, Ministry of Education Engineering Research Center of Bioreactor and Pharmaceutical Development, Jilin Agricultural University, Changchun 130118

Abstract: Oil bodies are specialized organelles found regularly in plant oil seeds which save as lipid storage compartment. Triacylglycerols (TAG) are present in these small discrete intracellular organelles and oil bodies was surrounded by a monolayer phospholipids embedded with some specific proteins. The oil body can be applied to the food and pharmaceutical industry by the stable structure of against stress environment. Extraction efficiency camelina oil body was compared under the different method and stability was investigated including that the different pH, NaCl concentration conditions of camelina oil. The study proved that the rate of extracted for oil bodies was up to 17% and uniform of dispersion. The stability of oil bodies decreased with the increase of NaCl concentration; the oil bodies stably distributed in $8 \leq \text{pH} \leq 10$ and the oil bodies' stability decreased obviously when pH value was between 4 and 7. The temperature and NaCl concentration almost had no effects on the oil bodies' stability.

Key Words: oil bodies; size; oleosin; stability; structure of microscope

基金项目: 科技部 863 项目“油体生物反应器研制及产品开发”(NO. 2011AA1000691008)

作者简介: 高红桃(1990-), 女, 吉林公主岭市人, 在读硕士, 研究方向: 植物油体生物反应器研制与产品开发

通讯作者: 王法微, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向: 植物油体生物反应器研制与产品开发;

E-mail: fw-1980@163.com;

李海燕, 教授, 博士生导师, 研究方向: 植物油体生物反应器研制与产品开发; E-mail: hyl99@163.com

近年来,针对不同来源的植物油体的提取分离及其特点进行了诸多的研究^[1-2]。研究表明,油体是由单层的磷脂膜包裹液态的三酰甘油(TAG)组合而成,其中油体蛋白、钙结合蛋白、固醇结合蛋白镶嵌于磷脂膜中^[3],其中,油体蛋白是主要的膜蛋白,为碱性的疏水蛋白,由三部分组成:亲脂性的N端、C端,及中间的输水区域^[4];以使油体产生电阻及空间排斥的作用,进而使油体能够稳定独立的存在^[5-7]。同时,其内部包裹存在的三酰甘油(TAG)为植物种子的萌发也起到了很重要的作用。因油体具有类似天然脂质体的作用,可以对油体进行加工处理,在生产食品、饲料、药物、个人护理和工业产品等中得到广泛的应用^[8-10]。此外,油体具有乳化剂的性质,还可以将其用于疫苗、食品、化妆品和个人护理产品的开发^[11-16]。

植物中油体提取的相关研究已有所报道,在Tzen等^[17]人的研究基础上,熊丽东等^[18]采用梯度离心、萃取抽提的方法得到红花油体蛋白,李玉琴等^[19]从油菜种子中提取油体及油体蛋白。Jacks^[20]等用含有氯化钠的Tris-HCl缓冲液,蒸馏水洗涤数次得到纯净的油体。Nikiforidis^[21]提出的整个过程只用水来清洗离心提取油料中油体的方法,该法提取率高,是一种适合工业化生产的提取方法。Vesna^[22]及Katavic^[22]等人对小油桐种子油体进行提取并对油体蛋白进行了分析。结果表明,由于提取过程中受到许多杂质的干扰,因此油体及其蛋白的纯度会受到影响。曹艳云、陈业明^[23]等人研究表明,虽然高碱性提取条件下能够获得纯净、不含过敏性蛋白及杂蛋白的油体,但它在一定程度上会改变所提取油体成分及性质。尤其是对大豆油体表面蛋白质和磷脂成分产生较显著的影响。所得结果并不理想。据此,本研究首次对亚麻芥种子油体提取方法进行了研究,通过显微镜及激光粒度仪对亚麻芥种子中油体的结构及大小进行分析,采用SDS-PAGE对逐步清洗纯化的亚麻芥油体电泳检测,确定杂蛋白的清除效果。并探讨了不同条件温度、pH值、NaCl的处理对油体稳定性的影响,为建立以油体为基质的相关产品的开发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

亚麻芥种子由吉林农业大学生物反应器与药物开发教育部工程研究中心提供。

1.2 方法

1.2.1 亚麻芥种子油体的提取方法

称取亚麻芥种子10g,加入300 ml 0.1mol/L NaOH 过胶体磨充分研磨1min,于50ml离心管中分装配平,4℃,12000 rpm/min,条件下离心10 min 去杂;取上层油体于5倍A液(pH=7.5 0.5mol/L NaCl 0.4mol/L Sucrose)充分混匀稀释于4℃,12000rpm,条件下离心10min;取上层油体加入5倍体积的无菌水(pH=9)洗液吹打混匀离心4℃,12000rpm,20min,去杂;重复上一步骤;取油体4℃放置。

根据Jacks^[20]等人研究的Tris-HCl油体提取法有所改动。称取亚麻芥种子10g;种子加入30倍体积0.15mol/L Tris-HCl缓冲液(pH=7.5 0.15mol/L Tris、0.01mol/L KCl、0.001mol/L MgCl₂、

0.6mol/L Sucrose))研磨, 离心 12000rpm, 4℃, 20min, 除去多余液体及残渣; 取上层油体加入 5 倍的 pH=7.5 Tris-HCl 缓冲液(0.15mol/L Tris、0.01mol/L KCl、0.001mol/L MgCl₂、0.6mol/L Sucrose) 重悬吹打混匀离心 12000rpm, 4℃, 20min, 除残渣; 取上层油体加入 5 倍体积 pH=7.5 Tris-HCl 缓冲液 B(0.15mol/L Tris、0.01mol/L KCl、0.001mol/L MgCl₂、0.4mol/L Sucrose)重悬离心 12000rpm, 4℃, 20min, 除杂,洗涤油体; 取油体于空管中加入 5 倍体积 0.1mol/L NaHCO₃ 重悬离心 12000rpm, 4℃, 20min; 取油体 4℃放置。

根据 Nikiforidis^[21]等人研究的的水法提取油体进行改动。称取亚麻芥种子 10g; 种子加入 300ml 去离子水研磨, 离心 12000rpm, 4℃, 10min; 取上层油体加入 5 倍体积的 pH=7.0 C 液 (0.5mol/L NaCl、0.4mol/L Sucrose)吹打混匀离心 10000rpm, 4℃, 10min, 去杂; 取上层油体加入 5 倍体积去离子水(0.1%吐温-20)混合,静置 30min 离心, 10000rpm, 4℃, 10min, 取上层油体加入 5 倍体积去离子水离心洗涤沉淀, 10000rpm, 4℃, 10min; 取油体 4℃放置

根据 Vesna^[22]及 Katavic^[23]等人研究的 Tricine-KOH 法有所改动提取亚麻芥油体。称取亚麻芥种子 10g; 种子加入 300ml pH=7.5 的缓冲液 (0.15mol/L Tricine、0.01mol/L KCl、0.001mol/L MgCl₂、0.001mol/L EDTA) 研磨粉碎, 充分混匀, 10000rpm, 4℃, 条件下离心 30min 去除杂质; 取上层油体加入 2.5 倍体积的 pH=7.5 缓冲液 D (0.15mol/L Tricine、0.01mol/L KCl、0.001mol/L MgCl₂、0.001mol/L EDTA、0.6mol/L Sucrose) 及 2.5 倍体积的 pH=7.5 缓冲液 E (0.15mol/L Tricine、0.01mol/L KCl、0.001mol/L MgCl₂、0.001mol/L EDTA、0.1mol/L Sucrose) 混匀于 10000rpm, 4℃条件下离心 30min, 去除杂质; 重复上一步; 取上层油体加入 5 倍的 E 液混匀离心 10000rpm, 4℃, 30min, 去杂; 取油体 4℃放置。

根据以上方法对亚麻芥种子油体进行提取, 并对其粒径、显微结构、电位等指标进行检测, 确定亚麻芥种子油体提取的最佳方法, 并对其稳定性进行初步研究。

1.2.2 亚麻芥油体提取率的比较

油体提取率 (%) = 提取油体的重量/种子的重量*100%

1.2.3 亚麻芥油体显微结构的观察

取少量亚麻芥种子油体, 用蒸馏水将其稀释后滴在载玻片上, 盖好盖玻片, 于荧光倒置显微镜下 (10 倍目镜 X 40 倍物镜) 观察亚麻芥油体的显微结构。

1.2.4 亚麻芥油体粒径及电位的测定

用 PSS 380ZLS 激光粒度仪测定其平均粒径 d , 测定时样品稀释 50-100 倍使仪器达到相应的遮光度后进行测定, 每个样品平行测定 3 次, 进行统计分析。

1.2.5 亚麻芥油体蛋白 SDS-PAGE 电泳检测

收集四种油体提取方法提取的亚麻荠油体，取 20 μl 样品加入 20 μl 去离子水后加入 10 μl 的 5X Loading buffer，混合均匀后于沸水中煮 10 min，制备 12% 的 SDS-PAGE 蛋白电泳，上样量为 10 μl 做蛋白鉴定。

1.3 亚麻荠油体稳定性的初步研究

不同 pH 值、温度对离体油体稳定性的影响参照 Iwanaga 等^[24]的方法进行优化。

1.3.1 不同 pH 值的亚麻荠湿油体的制备

分别称取亚麻荠新鲜油体 2 ml，用 0.1M HCl 或 0.1M NaOH 调节样品值为 4、5、6、7、8、9、10 的样品，至于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱放置 36 h 后检测油体的显微结构及粒径。

1.3.2 不同温度处理的亚麻荠油体的制备

分别称取亚麻荠新鲜油体 2 ml 于 20 $^{\circ}\text{C}$ 、40 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$ 、80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅内水浴加热 30 min 后，4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱放置 36 h 后检测油体的显微结构及粒径。

1.3.3 不同氯化钠浓度的亚麻荠油体的制备

取亚麻荠新鲜油体 20 ml，用 10 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 (pH=7.0) 1:5 稀释混匀，分别取 10 ml 稀释后的溶液依次加入 50 mmol、100 mmol、150 mmol、200 mmol、250 mmol 的氯化钠，4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱放置 36 h 后检测油体的显微结构及粒径。

注：粒径检测：用 PSS 380ZLS 激光粒度仪测定其平均粒径 d ，测定时样品稀释 50-100 倍使仪器达到相应的遮光度后进行测定，每个样品平行测定 3 次后，进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 亚麻荠油体的提取

2.1.1 不同提取方法对亚麻荠油体提取率及外观的影响

根据不同提取方法回收所得的油体对其外观及提取率比较。由图 1 可以看出，四种提取方法所得油体均为乳白色，Tris-HCl 法和碱法所提取的油体含量明显高于水法和 Tricine 法，分别为 17 % 和 25 %；水法和 Tricine 法提取油体提取率低于 10 %。

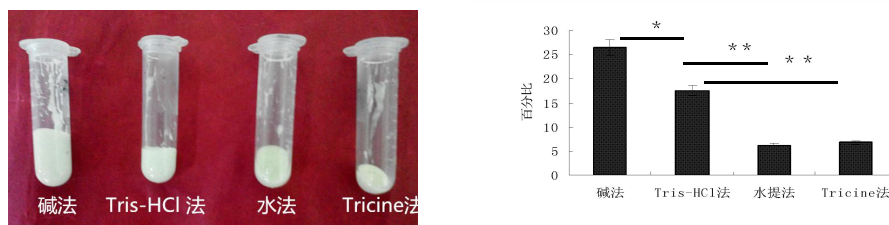


图 1 不同提取方法下的油体提取率及外观
Fig.1 Different method rate of extraction and surfaces of oil bodies

2.1.2 不同提取方法对亚麻荠油体显微结构的影响

图 2 中可见，在荧光及可见光条件下，四种油体提取方法回收所得油体显微结构可明显看出：Tris-HCl 法回收所得油体大小均一、分散均匀，而水法、Tricine 法提取油体大小不均一。其中碱法回收所得的油体较少，可能是强碱性条件下油体一些结构被破坏而导致油体减少。

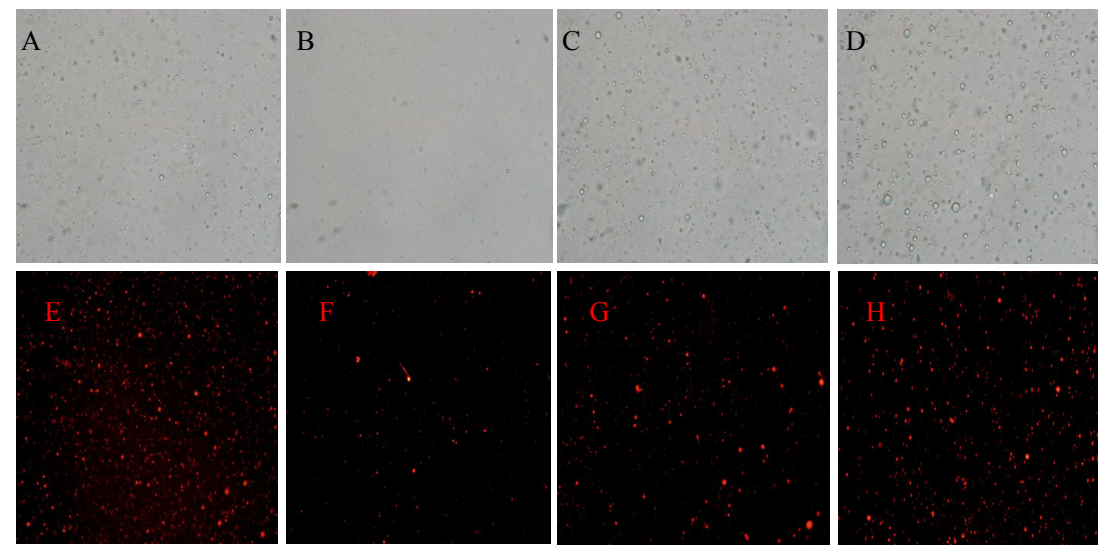


图 2 可见光及荧光条件下的显微结构
A、E: Tris-HCl 法回收所得油体；B、F: 碱法回收所得油体；
C、G: 水法回收所得油体；D、H: Tricine 法回收所得油体
Fig. 2 Microstructure for visible and fluorescence conditions
E: Oil bodies was recovered by Tris-HCl B、F: Oil bodies was recovered by Alkaline
C、G: Oil bodies was recovered by water D、H: Oil bodies was recovered by Tricine

2.1.3 不同提取方法对亚麻荠油体粒径及电位的影响

为了测定不同提取方法对亚麻荠油体的粒径及油体表面电荷的影响，本实验采用激光纳米粒度仪检测四种方法所得油体的粒径及电位值如图 3，梯度离心之后，各提取方法收集到油体大小均在 400 nm-1000 nm 之间，且 Tris-HCl 法，所得油体粒径最小。Tris-HCl 法、水法及 Tricine 法所得油体电位值分别为-6.205 mV、-7.505 mV、-8.63 mV，无太大差距；但与碱法相比，其电位值的绝对值均大于碱法回收所得油体的电位值的绝对值，有利于油体的稳定存在。

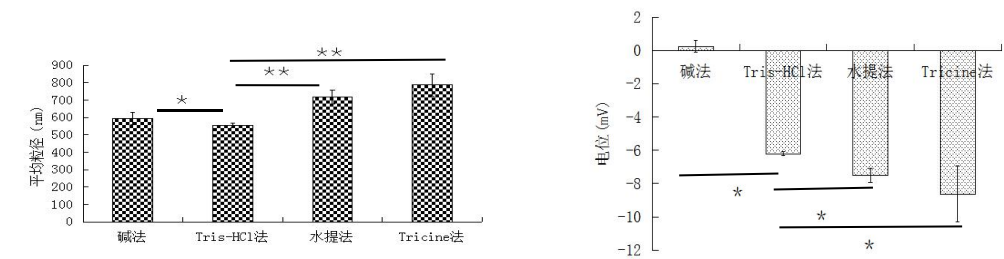


图 3 四种油体提取方法油体粒径及电位分析 (p<0.05)
Fig. 3 The oil bodies particle and zeta potentialas detected by four kinds of extraction method (p<0.05)

2.1.4 不同提取方法对亚麻荠油体蛋白的影响

验证四种油体提取方法对亚麻荠油体蛋白的影响，本研究对四种油体提取方法下回收的油体

进行 SDS-PAGE 分析，进一步确定四种油体提取方法对亚麻芥油体蛋白的影响，由图 4 明显可以看出在 20.1 KDa 处出现亚麻芥油体蛋白条带，经过 4 步洗涤之后碱法所回收的油体杂蛋白最少，其它三种方法所得油体杂蛋白均要多于碱法。

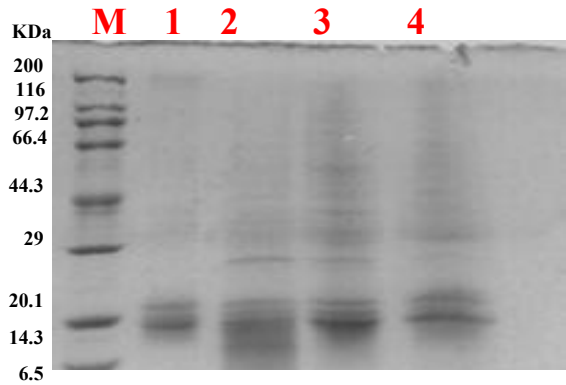


图 4 油体蛋白 SDS-PAGE
M:蛋白 Marker 其余泳道依次为碱法、水法、 Tris-HCl 法、 Tricine 法
Fig.4 SDS-PAGE for oleosin
M: Marker The remaining lanes were alkali, water, Tris-HCl and Tricine method

2.2 亚麻芥油体稳定性的初步研究

2.2.1 不同温度对亚麻芥油体稳定性的影响

采用 PSS 380ZLS 激光粒度仪和荧光倒置显微镜分别测定得到不同温度处理下的油体粒度分布及显微结构。与未经过任何处理的亚麻芥油体比较，经过不同温度处理后的油体均不同程度破裂。说明不同温度处理对亚麻芥油体的稳定性并未起到任何作用，油体稳定性破坏。

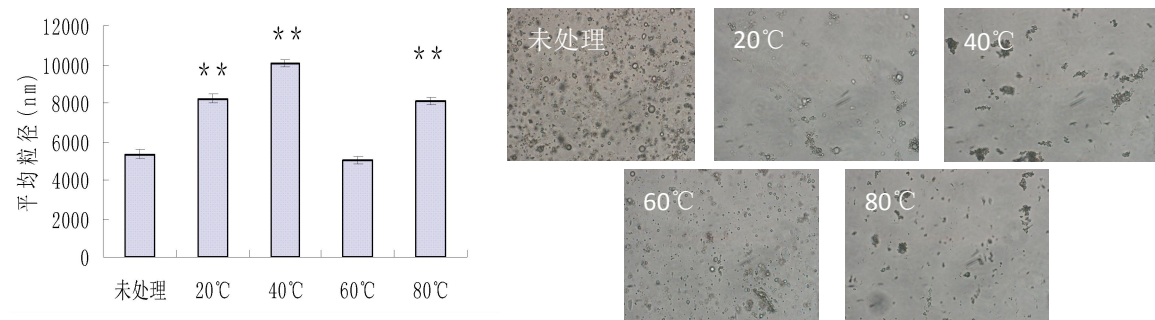


图 5 不同温度下亚麻芥油体粒度分布及显微结构 (p<0.05)
Fig.5 The size distribution and microstructure of oil bodies under the different conditions of temperature (p<0.05)

2.2.2 不同 NaCl 浓度对亚麻芥油体稳定性的影响

采用 PSS 380ZLS 激光粒度仪和荧光倒置显微镜分别测定得到不同氯化钠浓度处理下的油体粒度（如图 6）及显微结构。未经过 NaCl 处理时，油体粒径为 5.0 μm 。NaCl 浓度在 0-150mmol 之间时，油体粒径有所减小，镜下观察油体少量聚集。NaCl 浓度在 200-250mmol 之间时，油体粒径变大，镜检下观察油体之间明显聚集，稳定性破坏。

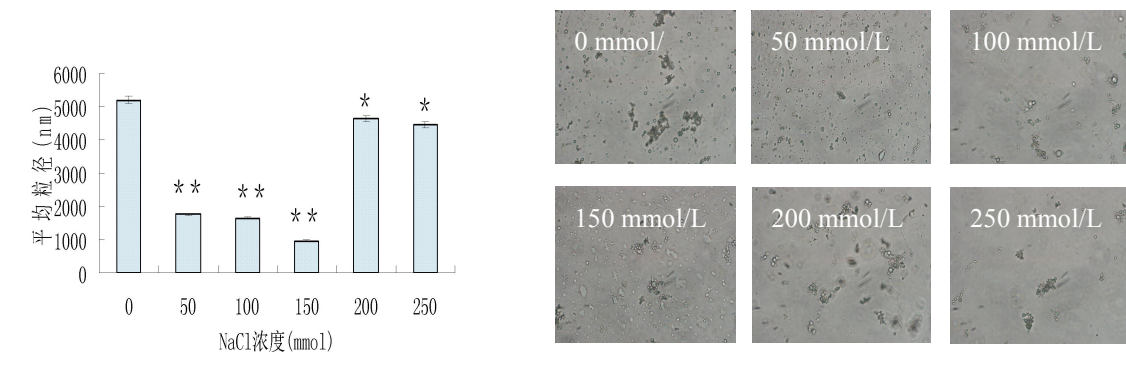


图 6 不同 NaCl 浓度下的油体粒度分布及显微结构(p<0.05)

Fig. 6 The size distribution and microstructure of oil bodies under the different concentration of NaCl (p<0.05)

2.2.3 不同 pH 值对亚麻芥油体稳定性的影响

采用 PSS 380ZLS 激光粒度仪和荧光倒置显微镜分别测定得到不同 pH 值条件下的油体粒度分布 (如图 7) 及显微结构。当 $4 \leq \text{pH} \leq 7$ 时, 油体粒径明显增加, 镜检下油体明显聚集, 形状不规则甚至破裂, 稳定性显著下降。当 $8 \leq \text{pH} \leq 10$ 时, 油体粒径基本不变, 平均粒径在 $0.5\text{--}3\ \mu\text{m}$ 之间, 镜检仅有少数油体聚集油体, 油体较稳定, 有助于油体储存, 这与油体外观观察的结果一致。

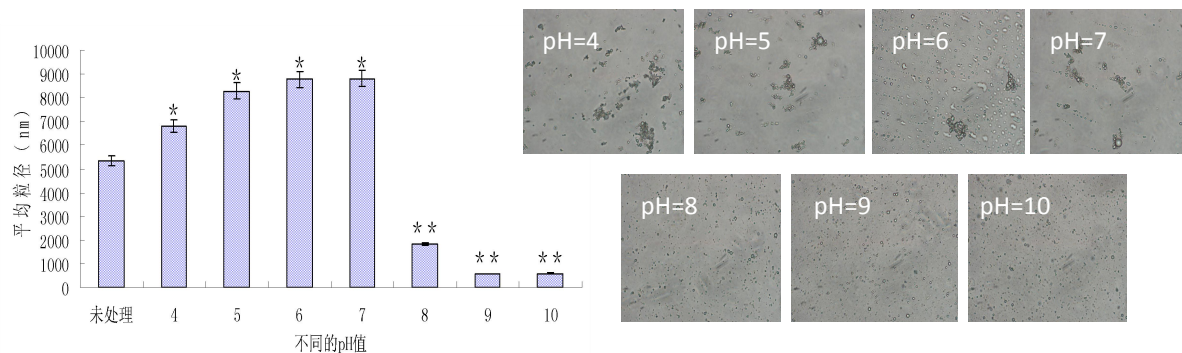


图 7 不同 pH 值条件下的油体粒度分布及显微结构(p<0.05)

Fig. 7 The size distribution and microstructure of oil bodies under the different conditions of pH (p<0.05)

3 讨论

Tzen 等^[17]人提出的油体结构模型认为, 油体是由包裹三酰甘油 (TAG) 的磷脂单分子层及油体蛋白镶嵌而成, 具有亲水性的磷脂分子的头部暴露在外面, 而其疏水性的结构位于油体的内侧。油体表面存在电荷, 当油体表面的静电荷接近于零, 通过静电聚合作用, 油体之间发生聚集, 形状不规则, 导致油体的粒径增大; 当远离油体蛋白的等电点时, 包裹三酰甘油的油体表面静电荷的绝对值增加, 油体之间的排斥力也增强, 可以保证油体稳定单个的存在而不发生聚集。因此, 油体这种特殊的结构对其抵抗外界环境压力具有重要的作用。

目前, 有关于大豆、花生、红花等油料作物油体的提取及稳定性的研究已经逐渐被报道。而针对油料作物亚麻芥油体的提取还未见报道, 亚麻芥油体作为一种天然的纳米级大小的微型细胞器, 并且内部含有丰富的不饱和脂肪酸, 对油体及其在食品及化妆品行业等产品的开发具有研究

意义。因此本研究首次对亚麻芥种子油体的提取及稳定性做了初步的研究。

本研究通过对亚麻芥种子油体的提取方法进行筛选,最终确定 Tris-HCl 法为亚麻芥油体提取的最佳方法。其油体回收率达 17%, PSS 380ZLS 激光粒度仪检测平均粒径在 0.5-0.8 μm 之间,粒径最小;荧光及可见光条件才观察,油体稳定均匀分散。

将回收获得新鲜的亚麻芥油体分别至于不同的 pH 值、温度及 NaCl 浓度的 PBS 缓冲溶液中。当不同 pH 值的处理时,改变了油体表面电荷状态;当 pH 值在 4-7 之间是油体粒径变大,显微结构观察油体大量聚集破裂。在酸性及中性条件下,油体表面静电荷减小,导致油体表面的静电斥力减小,油体之间发生聚集甚至破裂,使其粒径变大。当 pH 值在 8-10 之间时油体稳定分散,未发生聚集。因油体表面所带电荷为负电荷,在偏碱性条件下处理时静电荷量增加,油体之间的静电斥力足够大,使油体之间保持平衡而不发生聚集。当加入不同浓度的 NaCl 时,随着 NaCl 浓度的增加,油体的粒径呈先减小后增加的趋势,这与李宁、杨从敏等^[25]的研究结果一致,李宁、梁从敏等^[26]研究也发现 pH 值在 4-6 之间油菜油体稳定性明显下降,油体直径显著增加; pH 值在 7-8 之间时油体粒径较小,稳定性较好,即油菜油体处在中性偏碱性条件下稳定存在。同时,高浓度的 NaCl 降低油体储存的稳定性。本研究结果显示这与前人研究结果一致。温度的处理对亚麻芥油体稳定性并未起到任何作用,这与康波^[26]、吴娜娜^[27]等人对大豆油体热稳定性的研究不一致,有可能是由亚麻芥本身材料的性质所导致的。研究结果表明,亚麻芥种子油体于酸性条件下并不能稳定存在,由于油体本身带有负电荷这一结构,中性偏碱性条件下更适合于亚麻芥种子油体储存。为其以油体为基质的产品开发奠定了基础。

参考文献

- [1] Acevedo F, Rubilar M, Shene C, et al. Seed oil bodies from *Gevuina avellana* and *Madia sativa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60 (28), 6994-7004.
- [2] Adams G G, Imran S, Wang S, et al. Extraction, isolation and characterisation of oil bodies from pumpkin seeds for therapeutic use. *Food Chemistry*, 2012, 134 (4), 1919-1925.
- [3] Tzen JTC, Lie GC, Huang AHC. Characterization of the charged components and their topology on the surface of plant seed oil bodies. *J Biol Chem*, 1992, 267 (22): 15626-15634.
- [4] Capuano F, Beaudoin F, Napier JA, et al. Properties and exploitation of oleosins. *Biotechnol Adv*, 2007, 25 (2): 203-206.
- [5] Huang A H C. Oil-bodies and oleosins in seeds. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992, 43 (5): 177-200.
- [6] Huang A H C. Oleosin and oil bodies in seeds and other organs. *Plant Physiology*, 1996, 110 (4): 1055-1061.
- [7] Tzen JTC, Lai YK, Chan KL, Huang AHC. Oleosin isoforms of high and low molecular weights are present in the oil bodies of diverse seed species. *Plant Physiol*, 1990, 94 (3): 1282-1289.
- [8] Tai SSK, Chen MCM, Peng CC, Tzen JTC. Gene family of oleosin isoforms in sesame seed oil bodies and their structural stabilization to reconstituted oil bodies. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2002, 66 (10): 2146-2153.
- [9] Roberts N, Scott R, Tzen J. Recent biotechnological applications using oleosins. *Open Biotech J*, 2008, 2 (3) : 13-21.
- [10] Deckers HM, Van Rooijen G, Boothe J, et al. *Symbiosys Genetics Inc. Oil body based personal care products. United States patent US*

6183762. 2001 Feb.
- [11] Chiang C J, Chen H C, Kuo H F, et al. A simple and effective method to prepare immobilized enzymes using artificial oil bodies. *Enzyme Microb Tech*, 2006, 39 (5): 1152-1158.
- [12] Chiang CJ, Chen HC, Chao YP, Tzen JTC. One-step purification of insoluble hydantoinase overproduced in *Escherichia coli*. *Protein Expr Purif*, 2007, 52 (1): 14-18.
- [13] Bhatla SC, Vandana S, Kaushik V. Recent developments in the localization of oil body associated signalling molecules during lipolysis in oilseeds. *Plant Signal Behav*, 2009, 4 (3): 176-182.
- [14] Blixt O, Allin K, Pereira L, et al. Efficient chemoenzymatic synthesis of O-linked sialy oligosaccharides. *J. Am Chem Soc*, 2002, 124 (20): 5739-5746.
- [15] Nikiforidis CV, Karkani OA, Kiosseoglou V. Exploitation of maize germ for the preparation of a stable oil body nanoemulsion using a combined aqueous extraction ultrafiltration method. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25 (5): 1122-1127.
- [16] Nikiforidis CV, Kiosseoglou V. Physicochemical stability of maize germ oil body emulsions as influenced by oil body surface xanthangum interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58 (1): 527-532.
- [17] Sembiosys Genetics Inc., Calgary (CA). OIL BODY BASED PERSONAL CARE PRODUCTS [P]. United States Patent: US6183762 B1, Feb.6, 2001.
- [18] 熊丽东, 杨晶, 田海山, 等. 红花油体及油体蛋白 Oleo-sin 的分离纯化 [C] // 泛环渤海地区(七省二市)生物化学与分子生物学学会——2010 年学术交流会论文集. 泰安: 山东生物化学与分子生物学会, 2010.
- [19] Xiong Lidong, Yang Jing, Tian Haishan, et al. Isolation and purification of safflower oil and oleosin protein// Panhe Bohai Sea (seven provinces and two cities) Biochemistry and Molecular Biology Society——A Proceedings of the Academic Seminar, 2010. Institute of Biochemistry and Molecular Biology of Shan dong, 2010.
- [19] 李玉琴. 不同含油量甘蓝型油菜种子全蛋白及油体蛋白的双向电泳分析. 郑州: 郑州大学, 2012.
- [19] Li Yuqin. Two - dimensional Electrophoresis Analysis of Whole Protein and Oil Body Protein of *Brassica napus* with Different Oil Content, Zhengzhou University, 2012.
- [20] Jacks T J, Hensarling T P, Neucere J N, Yatsu L Y, Barker R H. Isolation and physicochemical characterization of half-unit membranes of oil seed lipid bodies. *Journal of the American Oil Chemists, Society*, 1990, 67 (1): 353-361.
- [21] Nikiforidis C V, Kiosseoglou V. Aqueous extraction of oil bodies from maize germ (*Zea Mays*) and characterization of the resulting natural oil-in-water emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57 (12): 5591-5596.
- [22] Vesna K, Ganesh KA, Martin H, et al. Protein and lipid composition analysis of oil bodies from two *Brassica napus* cultivars. *Proteomics*, 2006, 6 (16): 4586- 4598.
- [23] 曹艳云, 陈业明, 华欲飞, 等. 高碱性提取的大豆油体的成分变化研究. *中国粮油学报*, 2014, 29 (3): 38-41.
- [23] Cao Yanyun, Chen Yeming, Hua Yufei, et al. Study on the Change of Composition of Soybean Oil Body with Alkaline Extraction. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2014, 29 (3): 38-41.
- [24] Iwanaga D, Gray D A, Fisk I D, et al. Extraction and characterization of oil bodies from soy beans: A natural source of pre-emulsified soybean oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(21): 8711-8716.
- [25] 李宁, 梁从敏, 臧新等. 油菜油体的提取方法优化及稳定性探讨. *河南农业科学*, 2015, 44 (4): 154-158.
- [25] Li Ning, Liang Congmin, Zang Xin, et al. Optimization of extracted method and stability for rape oil body. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2015, 44 (4): 154-158.
- [26] 康波. 花生油体乳液稳定性及乳液凝胶的研究. 华南理工大学, 2012.
- [26] Kang Bo. Study on emulsion stability and emulsion Gel of peanut oil. South China University of Technology, 2012.
- [27] 吴娜娜, 杨晓泉, 郑二丽, 等. 大豆油体乳液稳定性和流变性分析. *农业工程学报*, 2012, 28 (1): 369-374.
- [27] Wu Nana, Yang Xiaoquan, Zheng Erli, et al. Stability and Rheology Analysis of Soybean Oil Body Emulsion. *Journal of Agricultural Engineering*, 2012, 28 (1): 369-374.